

A liquid culture system for murine megakaryocyte progenitor cells

著者	長沢 俊郎, Nakazawa Masaki, Abe Tsukasa
内容記述	Thesis--University of Tsukuba, D.M.S.(B), no. 220, 1985. 10. 31 Offprint. Originally published in: Blood, v. 59, no. 2, pp. 250-257, 1982 Joint authors: Masaki Nakazawa and Tsukasa Abe Includes supplementary treatises
発行年	1984
URL	http://hdl.handle.net/2241/6131

氏 名 (本 籍) ^{なが}長 ^{さわ}澤 ^{とし}俊 ^{ろう}郎 (東京都)

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 博 乙 第 220 号

学 位 授 与 年 月 日 昭和59年10月31日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第5条第2項該当

審 査 研 究 科 医学研究科

学 位 論 文 題 目 A liquid culture system for murine megakaryocyte progenitor cells.
(液体培養系によるマウス巨核球系前駆細胞の培養)

主 査 筑波大学教授 医学博士 小 嶋 瑞

副 査 筑波大学教授 医学博士 大 菅 俊 明

副 査 筑波大学教授 医学博士 滝 田 齊

副 査 筑波大学教授 医学博士 濱 口 秀 夫

副 査 筑波大学助教授 医学博士 杉 下 靖 郎

論 文 の 要 旨

近年、造血管細胞の in vitro 培養法確立により、血球の分化、増殖過程が in vitro でも観察可能となった。巨核球—血小板系の場合、巨核球系前駆細胞 (CFU-M) の分化、増殖から巨核球の成熟を経て、血小板産生にいたる過程を観察しうる培養系が必要である。本論文では独自に考案された液体培養系によりマウス CFU-M の培養が試みられ、あわせて培養巨核球の性状について検討を加えている。1 液体培養系の概略は牛胎児血清0.4ml, 牛血清アルブミン液 (8%W/V) 0.1ml, 牛胎児浸出液の0.1ml, L-アスパラギン液 (2mg/ml) 0.1ml, α 培地0.2ml, Pokeweed Mitogen 刺激マウス脾細胞培養上清0.4ml, 15%牛胎児血清加ハンクス液0.6mlとマウス骨髓細胞液0.1ml (2×10^5 個) の合計 2 ml を 35mm 組織培養皿上で混和後, 37℃, 7.5% CO₂ 中にて 3~10日間培養した。巨核球コロニーの同定は, 培養皿底のコロニーを 2.5% グルタルアルデヒドにて固定後, アセチルコリンエステラーゼ染色により, 4 個以上の陽性細胞群をコロニーとして算定した。

その結果, 以下の成績をえた。

1) 液体培養系でも巨核球コロニーの形態は保持され, 培養 3 日目に $25.1 \pm 4.1 / 2 \times 10^5$ cell と巨核球コロニーの出現がみられ, 培養 7 日目には 60.5 ± 10.7 個と最高値を示し, その後漸減をみた。一方, 培養系に出現する総巨核球数を算定した結果, 培養 3, 5, 7, 10 日目でそれぞれ 803 ± 31 , 1141 ± 52 , 1300 ± 74 , 720 ± 50 個の巨核球の出現がみられ, 培養前の骨髓細胞 2×10^5 個あたり 330 ± 104 個の巨核球がみられたのに比し, 約 4 倍の巨核球数の増加が認められた。

2) 本培養系に出現した巨核球コロニーの clonality を検討した結果、添加骨髓細胞数 0.5×10^5 個から 2×10^5 個の間で直線関係が証明され、一方、添加した Conditioned Medium を 5 % から 20 % に変化させた結果でも出現するコロニー数に直線関係が証明され、出現した巨核球コロニーは clonal origin によるものと結論された。

3) 巨核球コロニーの成熟度を透過電顕により検討した結果では、巨核球コロニー数が最大となった培養 7 日目でも早期未熟型、未熟型、成熟型の比率は 18.5 %、66.1 %、15.4 % と巨核球の大部分は未熟型で、血小板産生像を有する巨核球は少数であった。

4) 培養上清中より少数の血小板が回収された。透過電顕ではほぼ正常に近い形態をしめす血小板であり、サイズは大型のものが多く認められた。

以上の如く、本論文で報告した液体培養法では CFU-M の分化、増殖から、培養血小板の観察までが可能となり、巨核球—血小板系の観察に適した方法といえる。この培養法は応小範囲も広く、巨核球系前駆細胞の基本的培養法の一つとなりうることを期待される。

審 査 の 要 旨

巨核球系前駆細胞の培養法としては血漿凝塊法あるいはメチルセルローズ法などが用いられているが、巨核球の特徴である血小板放出機構などの研究は困難であった。本論文で考案された液体培養系は巨核球系前駆細胞の分化、増殖から培養血小板の観察までが単一の培養系で観察可能であることを実証している。本研究は巨核球系前駆細胞の分化、増殖過程を解明するための基礎的研究として評価される。

よって、著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものとみとめる。